

## INDUKSI POLIPLOID *TACCA LEONTOPETALOIDES* LINN SECARA *IN VITRO* DENGAN ORIZALIN

Andri Fadillah Martin\*, Rudiyanto, Betalini Widhi Hapsari,  
Tri Muji Ermayanti

Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Jl. Raya Bogor KM 46 Cibinong, Bogor, 16911

\*Email Korespondensi: andrifm@gmail.com

### Abstract

Taka plant (*Tacca leontopetaloides* Linn.) which produces tubers useful for a source of carbohydrates. In Indonesia, this plant grows only at coastal areas. Tissue culture has been developed for conservation and mass propagation in many plant species. Increasing genetic diversity and plant productivity can be achieved by polyploidization. The aim of this research was to induce Taka polyploid plants *in vitro* culture using oryzalin. Experimental design was Completely Randomized Design with factors tested were 0, 7.5, 15, 30, 60 and 75  $\mu$ M oryzalin. Every treatment has 20 replicates. The variables observed were: shoot height, number of leaves and number of roots which were observed weekly at 1-4 weeks after culture. Flowsitometer analysis was done to confirm of Taka ploidy. The results showed that shoot height and number of leaves on 0, 7.5, 15, 30, 60 and 75  $\mu$ M of oryzalin were not significantly different. The highest number of roots was produced by control and 30  $\mu$ M of oryzalin. Additional of 15 and 75  $\mu$ M oryzalin produced highest tetraploid shoots. Mixoploid shoots were found with 75  $\mu$ M oryzalin. Triploid shoots were only produced by 75  $\mu$ M oryzalin, while hexaploid and octaploid shoots were produced by 7.5 and 15  $\mu$ M oryzalin, respectively.

**Keywords:** Growth, *in vitro*, oryzalin, polyploid, *Tacca leontopetaloides*

### I. PENDAHULUAN

Taka (*Tacca leontopetaloides* Linn.) merupakan tanaman berbunga termasuk dalam famili *Taccaceae*. Tinggi tanaman Taka dapat mencapai 2 m, batang tidak berkayu dan tidak bercabang. Tangkai daun melekat pada batang berbentuk segi lima dengan sistem perakaran serabut. Taka dapat berkembang biak secara vegetatif melalui umbi dan secara generatif menggunakan biji. Tanaman ini Banyak tumbuh di daerah-daerah pesisir pantai di wilayah hutan tropis dan hutan hujan subtropis (Ndouyang *et al.*, 2014; Wawo *et al.*, 2015).

Umbi Taka memiliki nilai gizi tinggi. Kandungan karbohidrat bersih per kg umbi sebesar 85.74 g, kalsium 58.0 mg, fosfor 7.2 mg, air 12.1 % dan karbon 1.89 gram (Ubwa *et al.* 2011). Umbi Taka juga memiliki kandungan protein sebesar 6.25%, lemak 0.35%, pati 66.65%, amilosa 22.77% dan amilopektin 43.88% (Aatjin *et al.*, 2013).

Biji Taka sangat sulit berkecambah, perbanyak vegetatif dengan umbinya adalah metode yang paling banyak digunakan untuk perkembangbiakan. Kultur jaringan merupakan salah satu metode yang dapat menghasilkan bibit unggul seragam

dalam waktu yang relatif singkat (Martin *et al.*, 2013). Mikropropagasi Taka telah dilakukan oleh Martin *et al.*, (2012), media terbaik adalah MS yang mengandung kinetin 0,5 mg/L. Konsentrasi gula terbaik untuk kultur taka adalah 30g/l (Betolini *et al.*, 2015). Hasil iradiasi sinar Gamma 30 Gy terhadap beberapa klon Taka hasil perbanyakan *in vitro* dapat meningkatkan kandungan antioksidannya (Betolini *et al.*, 2016).

Taka mempunyai jumlah kromosom  $2n$  ( $2x$ ): 30 termasuk jenis tanaman diploid (Phengklai, 1980). Induksi poliploid merupakan salah satu metode untuk meningkatkan keragaman genetik. Poliploid adalah kondisi pada suatu organisme yang memiliki set kromosom (genom) lebih dari sepasang atau memiliki kromosom ganda. Penggandaan kromosom dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa anti mitotik seperti kolkisin dan orizalin (Wulansari *et al.*, 2016).

Tanaman poliploid umumnya memiliki morfologi lebih baik dibandingkan dengan tanaman diploidnya sehingga menghasilkan biomassa tanaman lebih tinggi. Manipulasi ploidi telah dimanfaatkan dalam pemuliaan tanaman pangan seperti gandum (heksaploid  $2n=6x$ ), kentang (tetraploid  $2n=4x$ ), pisang (triploid  $2n=3x$ ; tetraploid  $2n=4x$ ), jambu biji *seedless* (triploid  $2n=3x$ ), mangga (tetraploid  $2n=4x$ ), dan semangka tanpa biji ( $2n=3x$ ). Tanaman poliploid, pada umumnya mempunyai ukuran vegetatif maupun generatif lebih besar, seperti pada tanaman bunga *Petunia axillaris*, tanaman buah apel, pir, pisang, jeruk, dan anggur, umbi kentang dan lobak serta kayu *Populus tremuloides* (Sukanto *et al.*, 2010).

Tanaman poliploid juga mampu menghasilkan metabolit sekunder dengan kadar lebih tinggi. Pada *Salvia miltiorrhiza* tetraploid mempunyai kandungan terpenoid dan flavonoid lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman diploidnya (Gao *et al.* 1996), sementara pada tanaman *Atropa belladonna* tetraploid menghasilkan kandungan alkaloid 1.5 kali lebih tinggi dari tanaman diploidnya (Huang *et al.*, 2010). Pada *Datura stramonium* dan *Hyoscyamus niger* tetraploid memiliki kandungan hiosiamin dan skopolamin lebih tinggi dibandingkan kontrol diploidnya (Berkov 2001).

Melalui induksi poliploid menggunakan teknik kultur jaringan tanaman diharapkan dapat menghasilkan bibit Taka unggul yang berproduktivitas tinggi serta tahan terhadap cekaman biotik dan abiotik. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan induksi tanaman poliploid Taka secara *in vitro* dengan orizalin.

## II. METODE PENELITIAN

### A. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI pada tahun 2016-2017.

## **B. Instrumen penelitian**

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah stok kultur tunas *Tacca leontopetaloides* yang ditanam pada media MS (Murashige and Skoog, 1962) dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh *Benzyl Amino Purine* (BAP) 0,5 mg/L. Media mengandung gula sebesar 30 g/L, dipadatkan dengan pematat agar Gelzan™ (2,5 g/L) dan pH media diatur 5,8 sebelum disterilisasi dengan otoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit.

## **C. Cara kerja**

### **1. Induksi poliploidi**

Stok kultur tunas Taka yang berumur 2 bulan direndam dalam media cair MS yang ditambahkan orizalin dengan konsentrasi 0 (kontrol); 7,5; 15; 30; 60 dan 75 uM selama 1 hari. Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali dan setiap ulangan terdiri dari 4 tunas. Tunas Taka direndam dalam 15 mL larutan MS-Orizalin dan dikocok pada kecepatan 80 rpm. Setelah direndam, tunas dicuci dengan akuades steril sebanyak 3 kali dan ditanam pada media MS perbanyakan .

### **2. Pertumbuhan kultur hasil induksi poliploid**

Tunas hasil perendaman Orizalin ditanam pada media perbanyakan yaitu media dasar MS dengan penambahan 0,5 mg/L BAP. Kultur kemudian dipelihara pada ruang kultur dengan intensitas pencahayaan 1000-1300 lux, pada suhu 25<sup>0</sup> C dan pencahayaan kontinyu. Kemudian pertumbuhan kultur diamati selama 4 minggu. Parameter pertumbuhan yang diamati dalah jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar. Analisis ploidy dari masing-masing tunas dilakukan setelah kultur melewati 4 kali subkultur (umur 6-8 bulan setelah perlakuan).

### **3. Analisis ploidi dengan flowsitometer**

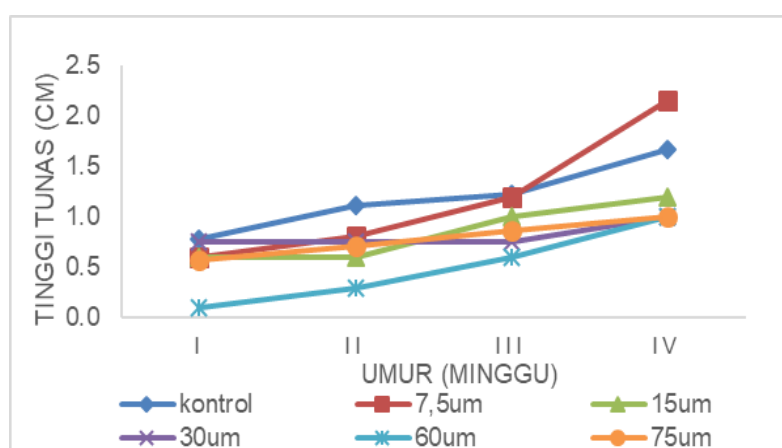
Analisis ploidi dilakukan dengan menggunakan flowsitomer CyFlow Space (Sysmex-Partec). Sampel daun berukuran 0,5 cm<sup>2</sup> dicacah sampai halus dengan menggunakan silet pada buffer Cystain PI sebanyak 250 µL. Campuran kemudian disaring dengan menggunakan saringan CellTrics® (Sysmex-Partec) berukuran 30 µm dan filtrat dimasukkan kedalam kuvet flowsitometri. Larutan pewarna Propidium-Iodida sebanyak 750 µL ditambahkan kedalam kuvet untuk dianalisis dengan menggunakan flowsitometer. Sampel dibaca pada panjang gelombang 440 nm dengan kecepatan 1000 nuclei per detik. Tanaman diploid digunakan sebagai kontrol untuk menentukan puncak diploid (Ermayanti *et al.*, 2013)

#### D. Analisis data

Data pengamatan tunas Taka umur 4 minggu dianalisa menggunakan analisis sidik ragam dan apabila hasil analisa menunjukkan perbedaan yang nyata dilanjutkan menggunakan uji Duncan pada  $\alpha$  5%.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

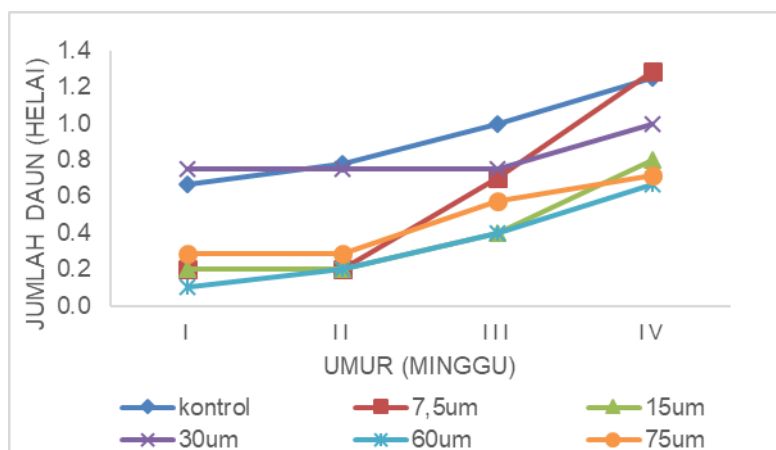
Rataan tinggi tunas Taka yang dikulturkan dalam media MS dengan perlakuan orizalin tertera pada Gambar 1. Tinggi tunas taka mulai memperlihatkan peningkatan pada umur 2 minggu setelah kultur. Pada perlakuan 7,5  $\mu$ M orizalin pertumbuhan tunas optimal di umur 2 hingga 4 minggu setelah kultur. Pada kontrol, 15, 30 dan 75  $\mu$ M orizalin penambahan tinggi tunas tidak menunjukkan serupa. Pada perlakuan 60  $\mu$ M pertumbuhan tunas taka lebih lambat dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Gambar 1). Pada perlakuan 60 dan 75  $\mu$ M orizalin penambahan tinggi tunas lebih rendah dibandingkan dengan kontrol dan orizalin dengan konsentrasi rendah. Hal ini selaras dengan hasil penelitian Sukamto *et al.*, (2010) bahwa pada perlakuan orizalin konsentrasi tinggi menghambat pertumbuhan tanaman garut, tetapi pada perlakuan orizalin konsentrasi rendah meningkatkan pertumbuhan tanaman garut (Sukamto *et al.*, 2010).



Gambar 1. Rataan tinggi tunas *Tacca leontopetaloides* pada perlakuan 0, 7.5, 15, 30, 60 dan 75  $\mu$ M orizalin umur 1-4 minggu

Rata-rata jumlah daun tunas Taka yang dikulturkan dalam media MS dengan penambahan 0, 7.5, 15, 30, 60 dan 75  $\mu$ M orizalin terdapat pada Gambar 2. Jumlah daun meningkat pada umur 1 minggu setelah kultur. Pada kontrol penambahan jumlah daun terjadi pada umur 2-4 minggu setelah kultur. Pada perlakuan 7.5  $\mu$ M penambahan jumlah daun optimal pada umur 2-4 minggu setelah kultur. Pada perlakuan 15, 60 dan

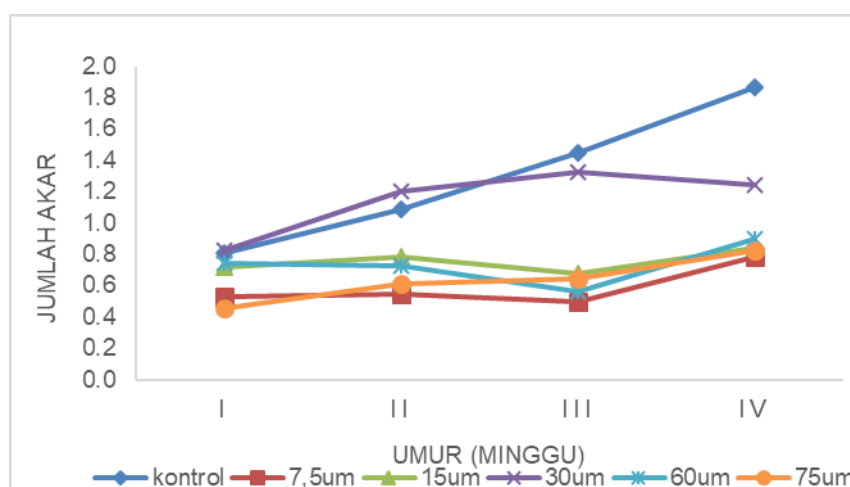
75uM orizalin pertambahan jumlah daun lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kontrol 7,5 dan 30 uM orizalin (Gambar 2). Wulansari *et al.*, (2016) menyatakan pertumbuhan tunas *in vitro* setelah perlakuan perendaman pada larutan orizalin menunjukkan penurunan dengan semakin meningkatnya konsentrasi orizalin. Rata-rata jumlah tunas majemuk menunjukkan penurunan dengan semakin meningkatnya konsentrasi orizalin.



**Gambar 2. Rataan jumlah daun *Tacca leontopetaloides* pada perlakuan 0, 7.5, 15, 30, 60 dan 75  $\mu$ M orizalin umur 1-4 minggu.**

Rata-rata jumlah akar tanaman Taka pada media MS dengan penambahan orizalin umur 1-4 minggu tersaji pada gambar 3. Pada kontrol, pertambahan jumlah akar tanaman taka lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan dengan penambahan orizalin. Pertambahan jumlah akar optimal terjadi pada umur 2-4 minggu setelah kultur. Pada perlakuan 30 uM orizalin jumlah akar meningkat pada umur 2 dan 3 minggu, namun pada umur 4 minggu tidak ada pertambahan jumlah akar. Pada perlakuan 7.5, 15, 60 dan 75 uM orizalin jumlah akar tidak bertambah pada umur 2 hingga 4 minggu (Gambar 3). Semakin tinggi konsentrasi orizalin, maka semakin menurun pertumbuhannya. Respon penghambatan pertumbuhan tersebut juga ditunjukkan pada induksi tetraploid tanaman jeruk setelah perlakuan senyawa anti mitotik pada konsentrasi yang semakin tinggi dan waktu perendaman yang semakin lama (Aleza *et al.*, 2009).

Nilai rata-rata tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah akar Taka yang dikulturkan pada media MS dengan perlakuan perendaman orizalin dengan konsentrasi , 7.5, 15, 30, 60 dan 75  $\mu$ M umur 4 minggu disajikan pada Tabel 1. Nilai tinggi tunas dan jumlah daun tidak berbeda nyata antar perlakuan yang diujikan. Rata-rata jumlah akar tertinggi terdapat pada kontrol dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya kecuali pada perlakuan 30 uM orizalin (Tabel 1).



**Gambar 3. Rataan jumlah akar *Tacca leontopetaloides* pada perlakuan 0, 7.5, 15, 30, 60 dan 75 µM orizalin umur 1-4 minggu**

Sukamto *et al.*, 2010 menyatakan bahwa pemberian orizalin dengan konsentrasi 10 µM meningkatkan tinggi tanaman, diameter batang, dan jumlah anakan tanaman garut secara nyata, tetapi jumlah daunnya tidak meningkat. Penurunan pertumbuhan tunas *in vitro* setelah perlakuan diduga akibat rusaknya jaringan selama perlakuan perendaman sehingga memerlukan waktu yang lebih lama untuk pemulihan (Damayanti dan Mariska, 2003).

**Tabel 1. Rataan tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah akar pada perlakuan 0, 7.5, 15, 30, 60 dan 75 µM orizalin umur 4 minggu.**

Konsentrasi Orizalin (µM)	Tinggi Tunas	Jumlah Daun	Jumlah Akar
0 (Kontrol)	1.67±0.29 <sup>a</sup>	1.25±0.25 <sup>a</sup>	1.87±0.31 <sup>a</sup>
7,5	2.14±0.59 <sup>a</sup>	1.29±0.47 <sup>a</sup>	0.79±0.10 <sup>b</sup>
15	1.20±0.37 <sup>a</sup>	0.80±0.37 <sup>a</sup>	0.84±0.12 <sup>b</sup>
30	1.00±0.32 <sup>a</sup>	1.00±0.32 <sup>a</sup>	1.24±0.42 <sup>ab</sup>
60	1.00±0.37 <sup>a</sup>	0.67±0.33 <sup>a</sup>	0.90±0.36 <sup>b</sup>
75	1.00±0.44 <sup>a</sup>	0.71±0.29 <sup>a</sup>	0.83±0.30 <sup>b</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada  $\alpha = 5\%$  ( $\pm$  Standard error)

Hasil analisis flowsitometer tunas Taka yang dikulturkan dalam media MS dengan perlakuan perendaman 0, 7.5, 15, 30, 60 dan 75  $\mu\text{M}$  orizalin dan telah disubkultur 4 kali tertera pada Tabel 2. Tunas tetraploid terbanyak terdapat pada perlakuan 15 dan 75  $\mu\text{M}$  orizalin. Tunas miksoptoid (diploid-tetraploid) terbanyak terdapat pada perlakuan 75  $\mu\text{M}$ . Tunas triploid hanya dihasilkan dari perlakuan 75  $\mu\text{M}$  orizalin, sedangkan tunas heksaploid dan oktaploid dihasilkan dari perlakuan 7.5 dan 15  $\mu\text{M}$  orizalin. Tunas taka yang miksoptoid merupakan tunas yang memiliki peak pada posisi diploid dan tetraploid (Tabel 2).

**Tabel 2. Hasil analisis flowsitometer tunas *Tacca leontopetaloides* pada perlakuan 0, 7.5, 15, 30, 60 dan 75  $\mu\text{M}$  orizalin setelah subkultur 4 kali (umur 8 bulan).**

Konsentrasi Orizalin ( $\mu\text{M}$ )	Jumlah tunas dengan tingkat ploidynya					
	Diploid	Triploid	Tetraploid	Heksaploid	Oktaploid	Miksoptoid (Diploid-Tetraploid)
0	20					
7,5	17		1	1		1
15	14		4		1	1
30	17		2			1
60	14		3			3
75	10	1	4			5

Thao *et al.*, 2003 menyatakan bahwa tunas Alocasia miksoptoid yang dihasilkan merupakan suatu kimera yang memiliki 2 set kromosom yang berbeda dalam 1 tunas yaitu diploid dan tetraploid. Keragaman tingkat ploidy pada konsentrasi yang sama dapat terjadi karena adanya perbedaan fase dari setiap sel yang akan menginisiasi tunas sehingga meskipun sejumlah sel pada meristem sudah terinduksi poliploid, beberapa sel yang lain tidak terpengaruh perlakuan orizalin dan tetap bersifat diploid.

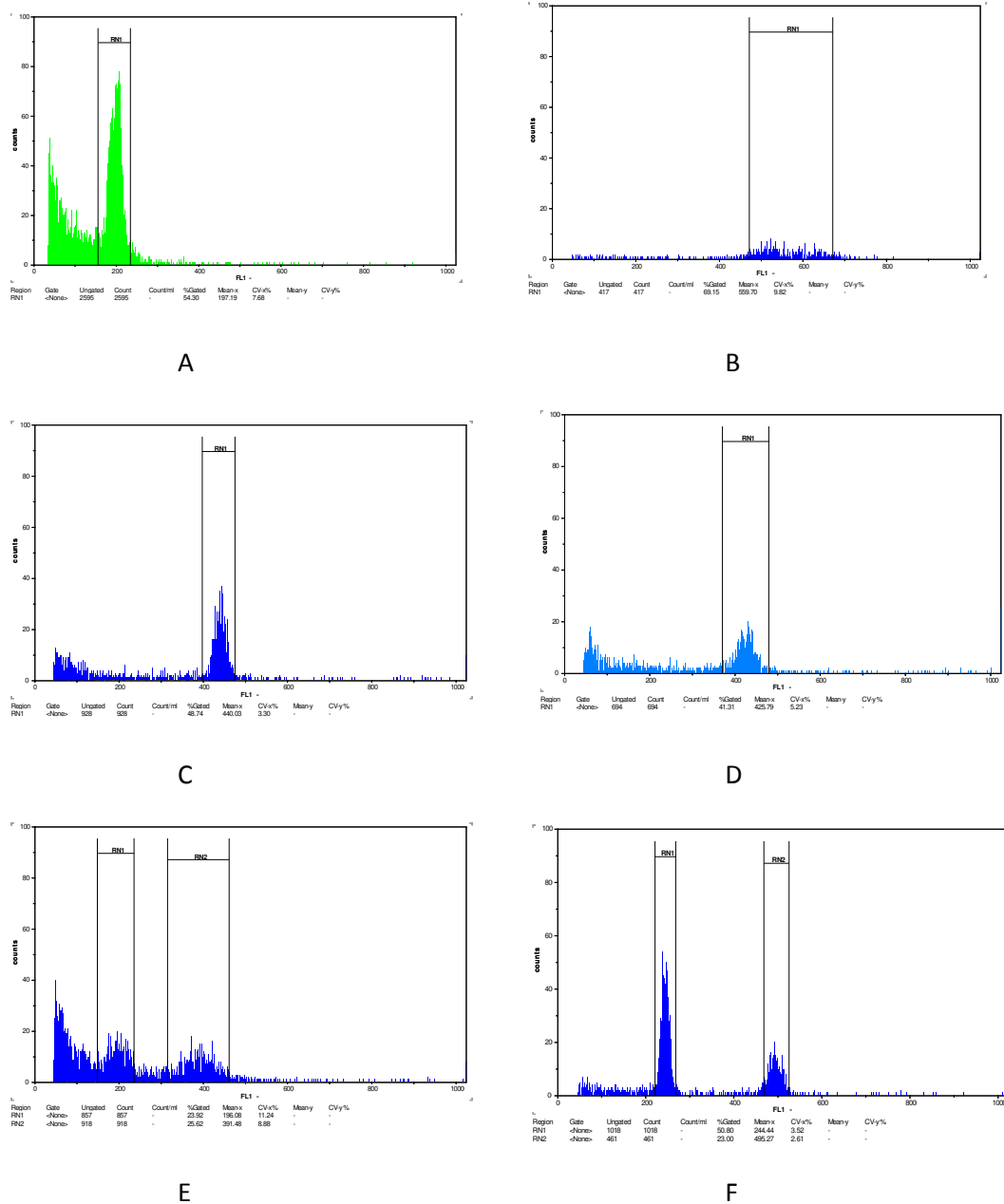
Konfirmasi tingkat ploidy tunas taka yang telah diinduksi melalui perendaman orizalin selama 24 jam dengan konsentrasi 0, 7.5, 15, 30, 60 dan 75  $\mu\text{M}$  terdapat pada Tabel 3 dan Gambar 4. Nilai rata-rata means serta nilai cv setiap ploidy tunas taka disajikan pada Tabel 3, sedangkan histogram hasil analisa flowsiometer terdapat pada Gambar 4. Pada kontrol peak histogram berada di kisaran angka 200 dengan demikian

kontrol tanaman Taka tanpa pemberian orizalin memiliki tingkat ploidi diploid. Pada perlakuan 7,5 uM orizalin sampel tunas taka yang diambil dan dianalisa menggunakan flowsitometer menunjukkan ploidi heksaploid dimana peak histogram yang dihasilkan berada di kisaran 600 atau tiga kali lipat dari ploidi kontrolnya. Pada perlakuan 15 uM orizalin peak histogram dari sampel tunas Taka yang terbentuk berada di posisi means dengan kisaran angka 400 sehingga termasuk dalam kategori tunas tetraploid. Demikian halnya dengan perlakuan 30 uM orizalin sampel tunas Taka termasuk tetraploid dengan nilai peak di kisaran angka 400 pula. Pada perlakuan 60 uM orizalin sebagian sampel tunas Taka yang dianalisa menggunakan flowsitometer menghasilkan dua peak histogram di kisaran angka 200 dan 400 atau diploid dan tetraploid sehingga sampel tunas taka yang dianalisis masuk dalam kategori tanaman mikroploid. Pada perlakuan 75 uM orizalin peak histogram berada di dua posisi yang berbeda yakni di kisaran angka mendekati 200 dan 400 atau mikoploid diploid-tetraploid (Tabel 3 dan Gambar 4).

**Tabel 3. Nilai means dan CV untuk Taka dengan tingkat ploidi berbeda.**

Tingkat ploidi	Nilai Means	CV
Diploid	197.19	7.68
Triploid	305.15	9.19
Tetraploid	440.03	3.30
Heksaploid	559.70	9.82
Oktaploid	782	7.48
Miksoploid (diploid-tetraploid)	196.08 dan 391.48	11.24 dan 8.88





**Gambar 4. Histogram hasil flowsitometer tunas Taka hasil induksi orizalin dengan perlakuan 0, diploid (A), 7.5, mikroploid (B), 15, tetraploid (C), 30 teraploid (D), 60, mikroploid (E) dan 75  $\mu$ M, heksaploid (F) orizalin yang telah disubkultur 4 kali (umur 8 bulan)**

#### IV. KESIMPULAN DAN SARAN

##### A. Kesimpulan

Orizalin mampu menginduksi Taka poliploid. Perlakuan 15 dan 75  $\mu\text{M}$  orizalin menghasilkan tunas tetraploid terbanyak. Tunas mikroploid terbanyak terdapat pada perlakuan 75  $\mu\text{M}$ . Tunas triploid hanya dihasilkan dari perlakuan 75  $\mu\text{M}$  orizalin, sedangkan tunas heksaploid dan oktaploid dihasilkan dari perlakuan 7.5 dan 15  $\mu\text{M}$  orizalin. Tinggi tunas dan jumlah daun pada perlakuan 0, 7.5, 15, 30, 60 dan 75  $\mu\text{M}$  orizalin tidak berbeda nyata. Jumlah akar yang tinggi terdapat pada tunas kontrol dan 30  $\mu\text{M}$  orizalin.

##### B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, perlu uji stabilitas ploidi tunas Taka polyploid setelah proses subkultur di media MS secara berkala. Selain itu perlu juga dilakukan seleksi klon-klon kandidat tanaman Taka unggul hasil induksi poliploidi melalui uji agronomi yang untuk mendapatkan genotipe berproduktivitas tinggi serta tahan terhadap cekaman biotik dan abiotik.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Deritha Elly Rantau, Lutvinda Ismanjani dan Evan Maulana yang telah membantu dalam penelitian ini. Penelitian ini didanai oleh DIPA Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI tahun 2016.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aatjin A.Z., M.B. Lelemboto, T. Koapaha dan L.P. Mamahit. 2013. Pemanfaatan Pati Taka (*Tacca leontopetaloides*) Pada Pembuatan Biskuit. *Cocos* 2:1–8.
- Aleza,P., J.Juarez, J.Ollitrault and L. Navarro. 2009. Production of Tetraploid Plants or Non Apomictic Citrus Genotypes. *Plant Cell Report*. 28:1837-1846.
- Berkov S. 2001. Size and Alkaloid Content of Seeds in Induced Autotetraploids of *Datura innoxia*, *Datura stramonium* and *Hyoscyamus niger*. *Pharmaceutical Biology*. 39 (5): 329-331.
- Betalini W.H., A.F. Martin dan T.M. Ermayanti. 2015. Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Pertumbuhan Kultur Tunas *Tacca Leontopetaloides*. Prosiding Seminar Nasional XVIII "Kimia dalam Pembangunan ". 227-232.

- Betalini W.H., A.F. Martin dan T.M. Ermayanti. 2016. Pertumbuhan Kultur *in Vitro* dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Tanaman Taka (*Tacca leontopetaloides* L. Kuntze) Hasil Radiasi Sinar Gamma. Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah–Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir. UNS. 243-249.
- Damayanti, F. dan I Mariska. 2003. Induksi Poliploid dengan Kolkisin pada Hibrida F Hasil Persilangan antar Spesies Pada Tanaman Panili Asal Ciamis. Buletin Biologi. 6 (4): 589-594.
- Ermayanti, TM., EA. Hafiizh, AF. Martin, & DE. Rantau. 2013. Pengaruh Kolkisin Terhadap Pertumbuhan Tunas *Artemisia annua* L. Secara *in vitro* dan Analisis Tingkat Ploidinya. Prosiding Seminar Nasional XXIII “Kimia dalam Industri dan Lingkungan”. Yogyakarta 13 November 2013. 513-522.
- Gao S.L., Z.H. Zhu and D.R.Cai-Xu 1996. Autotetraploid Plants from Colchicine-Treated Bud Culture of *Salvia miltiorrhiza* Bge. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 47: 73–77.
- Huang H, S. Gao, L. Chen, K. Wei. 2010. *In vitro* Tetraploid Induction and Generation of Tetraploids from Mixoploids in *Dioscorea zingiberensis*. *Pharmacognosy Magazine*. 6 (21): 51-56.
- Martin A.F., Ermayanti T.M., Hapsari B.W. dan Rantau D.E. 2012. Rapid micropropagation of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze, Proceedings The 5 th Indonesia Biotechnology Conference, Pp 240-251, ISSN 2301-8216.
- Martin A.F., E. Maulana dan T.M., Ermayanti. 2013. Seleksi Media Untuk Regenerasi Kalus dan Peningkatan Pembentukan Planlet Tanaman *Tacca leontopetaloides*. Prosiding SNKTI Vol.2: 1-7.
- Ndouyang C.J., R.M. Nguimbou, Y.N. Njitang, J. Scjer, B. Facho and C.M.F. Mbofung. 2014. In Vivo Assessment of The Nutritional and Subchronic Toxicity of *Tacca leontopetaloides* (L.) tubers. *Scholarly Journal of Agricultural Science*. 4(1): 5-13.
- Phengkklai, C. 1980. Taccaceae. *Thai Forest Bulletin* 13: 23-33.
- Sukamto, L.A., F. Ahmad dan A. H. Wawo. 2010. Pengaruh Orizalin terhadap Tingkat Ploidid Tanaman Garut (*Maranta arundinacea* L.). *Jurnal Litbang Pertanian* 21(2): 93-102.
- Thao, N.T.P., K.Ureshino, I. Miyajima, Y. Ozaki and H. Okubo. 2003. Induction of Tetraploids in Ornamental Alocasia Through Colchicine and Orizalin Treatments. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 72: 19-25.
- Ubwa S.T., B.A. Anhwange, J.T. Chia. 2011. Chemical Analysis of *Tacca leontopetaloides* Peels. *American Journal of Food Technology* 6:932–938.

- Wawo, A. H., P. Lestari dan N. W. Utami. 2015. Studi Perbanyakan Vegetatif Tanaman Taka (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) dan Pola Pertumbuhannya. *Berita Biologi*. 14(1): 1-9.
- Wulansari, A., Martin, A. F., dan Ermayanti, T, M. 2016. Induksi Tanaman Poliploid Talas (*Colocasia esculenta* L.) dengan Perlakuan Orizalin secara *in vitro*. *Jurnal Biologi Indonesia*, 12(2): 297 – 305.